

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА ПОЛОСТИ РТА У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ФОРМАМИ ЛЕЙКЕМИИ

Илона Ковач, доктор медицинских наук,

Юлия Хотимская,

Оганез Гаспарян,

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Kovach I., Khotimskay Yu., Hasparayan O. Features microbial landscape of the oral cavity in children with acute forms of leukemia.

Annotation. To study the characteristics of the microbial landscape of the oral cavity in children suffering from acute forms of leukemia.

There have been studies of 161 children aged from 2 to 18 years. Of these, 126 children were diagnosed with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and 35 somatically healthy children. The study of the state of oral microbiocenosis evaluated in children according to the data, which were obtained from the main habitats of the oral cavity: content periodontal groove plaque from buccal surfaces of the lower molars, oral fluid.

Picture microbiocenosis in the oral cavity in children with blood cancer is significantly different from that of healthy children. During the treatment of the underlying disease increases the amount and improves the degree of population of conditionally pathogenic and pathogenic microflora, which causes aggravation of major dental diseases and leads to decompensated flow during the recurrence of the underlying disease. Therefore, especially important to the correction of oral microflora as a whole, as well as the timely removal of plaque and personal hygiene of each child in different periods of the disease.

Keywords: leukemia, children, oral mucosa, microbiocenosis, goiter.

Введение. В связи с возрастающей значимостью микробной экологии человека в поддержании его гомеостаза существенное значение приобретает изучение состояния микробиоценоза слизистой оболочки полости рта. Большая роль в регуляции микрoэкологических систем принадлежит нормальной микрофлоре, которая служит чувствительным индикатором здоровья, меняясь при различных заболеваниях [1–3].

При общесоматических заболеваниях происходят изменения как в качественном, так и в количественном составе микрофлоры [4].

Таким образом, микробиоценоз полости рта — многокомпонентная система, характер составляющих которой имеет специфические особенности при развитии патологических процессов [5].

В результате снижения общего и местного иммунитета при онкогематологических заболеваниях микрофлора полости рта также претерпевает критические изменения. Современные интенсивные противоопухолевые протоколы резко снизили смертность детей от онкологических заболеваний с достижением возможности выживания до 80% из них. Однако параллельно с успехами онкопедиатрии увеличивается опасность поздних эффектов лечения [6].

Применение цитостатических препаратов, облучения, иммунодепрессантов усугубляют иммунные нарушения, что приводит к изменению физиологического

микробиоценоза, нарушениям колонизационной резистентности слизистых оболочек и формированию дисбиотических сдвигов [7].

На сегодняшний день доказана прямая связь изменения микробного пейзажа полости рта с развитием кариеса, воспалительных заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта [8]. Принимая во внимание то, что иммунная функция микрофлоры включает синтез факторов иммунной защиты — лизоцима, пропердина, комплемента, секреторного иммуноглобулина А (sIg A), активацию фагоцитоза, стимуляцию системы цитокинов и интерферонов, вероятно, дисбактериоз полости рта ведет за собой снижение общей резистентности.

Учитывая то, что до сих пор отсутствуют исследования состояния микрофлоры и местного иммунитета полости рта у детей с гемобластомами, данное научное направление можно считать актуальным и перспективным [9].

Материалы и методы исследования. В клинических исследованиях принял участие всего 161 ребенок в возрасте от 2-х до 18-ти лет. Из них у 126 детей был диагностирован острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) и 35 соматически здоровых детей.

Для установления особенностей микробиоценоза полости рта у детей с острым лимфобластным лейкозом на первом этапе работы нами были определены (как референтный показатель оценки уровня здоровья) характер микробиоценоза (спектр, частота возникновения и количество микроорганизмов) у практически здоровых детей.

Изучение состояния микробиоценоза полости рта оценивали у детей по данным, которые были получены из основных биотопов полости рта: содержание зубодесневого желобка, зубной налет с вестибулярной поверхности нижних моляров, ротовая жидкость.

Результаты исследования и их обсуждение. Структура биоценоза ротовой жидкости практически здоровых детей достаточно стабильна как в качественном, так и в количественном отношении, микроорганизмы представлены 4-мя основными родами: стрептококки, нейссерии, лактобациллы, стафилококки.

Во время обследования детей с ОЛЛ в первый острый период был обнаружен полимикробный характер ротовой жидкости. В обследованном материале одного ребёнка было обнаружено от 3-5 видов микроорганизмов. Ведущую роль в развитии патологических состояний в полости рта отведено микробным ассоциациям, которые состояли из аэробов, анаэробов и дрожжеподобных грибов и их высокой степени заселения.

Главную роль в процентном соотношении среди анаэробной микрофлоры занимает группа облигатных грамотрицательных анаэробов (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella oralis*). В группе практически здоровых детей анаэробные грамотрицательные бактерии не выделены (табл.1). Статистический сравнительный анализ, проведенный с контрольной группой здоровых детей, показал достоверное увеличение количества анаэробных представителей во всех группах детей больных острым лимфобластным лейкозом ($p < 0,05$).

Таблица 1

Микробиоценоз ротовой жидкости практически здоровых детей и детей с ОЛЛ, lg КОЕ/мл (M±m)

Выделенные микроорганизмы	Острый период	Ремиссия	Рецидив	Здоровые дети
<i>Lactobacillus</i> spp.	1,98±0,11*	1,63±0,09*	0,92±0,05*	3,61±0,19
<i>Neiseria</i>	2,49±0,13	2,89±0,15*	3,45±0,17*	2,28±0,12
<i>Staphylococcus</i> spp.	6,72±0,34*	4,05±0,21	7,22±0,04*	3,81±0,20
<i>Streptococcus</i> spp.	6,89±0,35*	4,27±0,22	7,41±0,04*	3,75±0,19
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	4,32±0,22*	2,71±0,14*	5,68±0,03*	1,63±0,08
<i>Citrobacter freundii</i>	2,18±0,11*	1,45±0,07*	2,93±0,15*	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2,91±0,15*	2,03±0,11*	3,19±0,16*	0,76±0,04
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,92±0,10	0,91±0,05	2,23±0,12	0,79±0,04
<i>Fusobacterium necroforum</i>	2,47±0,13*	1,75±0,09*	2,98±0,15*	1,21±0,07
<i>Bacteroides</i> spp.	3,98±0,20*	2,65±0,14*	4,27±0,22*	2,07±0,11
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2,45±0,13*	1,98±0,10*	3,61±0,19*	1,45±0,08
<i>Prevotella oralis</i>	4,91±0,25*	3,65±0,19*	5,22±0,27*	1,62±0,081
<i>Veyllonella</i>	1,45±0,07*	1,22±0,06*	1,67±0,09*	-
<i>Treponema denticole</i>	2,37±0,12*	1,92±0,10*	3,81±0,19*	-
<i>Candida albicans</i>	4,45±0,23*	7,32±0,37*	8,09±0,41*	1,05±0,05
<i>Escherichia coli</i>	5,23±0,27*	2,81±0,14*	6,03±0,31*	1,56±0,08
<i>Klebsiella pneumonia</i>	2,32±0,12*	1,03±0,05*	2,65±0,14*	-
<i>Pseudomonas</i>	2,41±0,12*	1,12±0,06*	2,73±0,14*	-

Примечание: * - показатель достоверности отличий по сравнению с группой здоровых детей (p<0,05)

Что касается аэробной микрофлоры (аэробные грамположительные кокки рода *Staphylococcus* и *Streptococcus*) анализ ротовой жидкости показал достоверное её увеличение в группе детей первого острого периода и периода рецидива ОЛЛ (6,72±0,34 - 7,22±0,04 lg КОЕ/мл - стафилококков и 6,89±0,35 - 7,41±0,04 lg КОЕ/мл - стрептококков).

Обследование группы детей в первый острый период ОЛЛ, проведённое во время их полиохиомиотерапевтического лечения, показало достоверное увеличение пародонтопатогенов и других представителей анаэробной микрофлоры (p<0,05). Так, количество пептострептококков увеличилось более, чем в 2,5 раза по сравнению с группой практически здоровых детей, а в группе семейства энтеробактерий в 2,4–3,8 раз. У 45 (73,8 %) детей этой группы высевались дрожжеподобные грибы, у 36 (59 %) детей высевали кишечную палочку (p<0,05). *Veyllonella* была обнаружена у 15 (24,6 %) детей, *Treponema denticole* у 23 (37,7 %). Также были выделены неферментирующие бактерии - аэробактерии (15 %), спорообразующие бактерии (17 %), актиномицеты (16 %). При сравнении приведенных показателей с результатами группы здоровых детей достоверной разницы не было установлено, но замечали тенденцию роста в процентном соотношении упомянутых микроорганизмов.

Анализ микрофлоры ротовой жидкости у детей с ОЛЛ в стадии ремиссии показал снижение количества аэробной микрофлоры, а именно представителей

рода стафилококков и стрептококков. Процентное соотношение анаэробов к аэробам составляло 3:1. Однако на фоне мощной полиохиомиотерапии в этот период у всех детей данной группы высевали дрожжеподобные грибы, часто регистрировались анаэробно-аэробные грибковые ассоциации микроорганизмов (табл. 1) У всех детей с ОЛЛ в период ремиссии наблюдалось уменьшение, а у ряда больных - полное исчезновения нормальных симбионтов - слюнных стрептококков, лактобактерий и эпидермальных стафилококков.

Самые тяжёлые нарушения колонизационной резистентности фиксировались в группе детей с ОЛЛ в период рецидива. Микрофлора ротовой жидкости детей с рецидивом ОЛЛ претерпевала критические изменения с развитием декомпенсированного дисбактериоза, что, по нашему мнению, может привести к нарушению функционирования ротовой полости как органа. Тот факт, что сразу после ремиссии в период обострения после проведения химиотерапии частота обнаружения многих микроорганизмов была большей, чем во время лечения, объясняется наличием именно в этот период эрозивно-язвенных поражений, которые быстро подвергались вторичному инфицированию.

Исследование микрофлоры зубного налёта у детей с острым лимфобластным лейкозом показало, что в микробиоценозе данной группы лиц происходят весьма значительные изменения, как в качественном, так и в количественном отношении.

Микрофлора зубного налёта с поверхности нижних моляров так же представлена грамположительными и грамотрицательными бактериями (условно-патогенная флора), грибами рода *Candida* и патогенной флорой.

Таблица 2

Микробиоценоз зубного налёта с поверхности нижних моляров практически здоровых детей и детей с ОЛЛ, lg КОЕ/см² (M±m)

Выделенные микроорганизмы	Острый период	Ремиссия	Рецидив	Здоровые дети
<i>Lactobacillus spp.</i>	1,92±0,10*	1,25±0,07*	0,92±0,05*	3,22±0,17
<i>Proteus</i>	1,22±0,07*	1,09±0,06*	1,42±0,08*	-
<i>Str. viridans</i>	4,72±0,24*	2,73±0,14*	4,97±0,25*	3,65±0,19
<i>Str. mutans</i>	6,46±0,33*	3,29±0,17*	6,85±0,35*	4,47±0,23
<i>Str. haemolyticus</i>	2,43±0,13*	1,65±0,09	2,66±0,14*	1,72±0,09
<i>Candida albicans</i>	4,96±0,25*	5,65±0,29*	6,82±0,35*	3,17±0,16
<i>Staph. epidermicus</i>	1,75±0,09	1,62±0,09	1,97±0,10*	1,52±0,08
<i>Staph. aureus</i>	1,35±0,07	0,92±0,05	1,68±0,09	0,73±0,04
<i>Escherichia coli</i>	1,19±0,06*	0,75±0,04*	1,54±0,08*	-
<i>Enterococcus</i>	1,53±0,08*	0,92±0,05*	1,78±0,09*	0,55±0,03
<i>Stomatococcus spp.</i>	3,22±0,17*	2,31±0,12*	3,46±0,18*	1,92±0,10
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5,46±0,28*	3,65±0,19*	6,73±0,34*	2,31±0,12
<i>Veyllonelly</i>	2,65±0,14*	2,21±0,12	3,09±0,16*	1,94±0,10

Примечание: * - показатель достоверности отличий по сравнению с группой здоровых детей (p<0,05).

При этом видовой состав доминирующей флоры биоценоза зубного налёта сохранялся у детей в разные периоды основного заболевания. Однако отмечался значительный рост представителей стафило-стрептококковой флоры у детей в первый острый период ОЛЛ. Так, *Streptococcus mutans* встречался в количестве $6,46 \pm 0,33 \text{ lg КОЕ/ см}^2$, что практически на 2 больше, чем у здоровых детей, а *Staph. Aureus* высевался в 1,85 раз чаще. У детей группы острого периода ОЛЛ также наблюдалось снижение на $1,3 \text{ lg КОЕ / см}^2$ количества лактобацилл. В 63,8 % детей встречались колонии грибов рода *Candida* с умеренным ростом (табл. 2).

Результаты сравнения характера биоценоза зубного налёта у детей в период рецидива острого лимфобластного лейкоза показывают уменьшение представителей резидентной флоры и значительное увеличение, как частоты регистрации, так и количества грибов рода *Candida* ($5,65 \pm 0,29 \text{ lg КОЕ/ см}^2$), что, вероятно, связано с приёмом большого количества химиопрепаратов и антибактериальных препаратов детьми с онкозаболеванием.

Анализируя видовой состав грибов рода *Candida*, следует отметить, что в 83 % случаев обнаруживался *Candida albicans*, у 35 % детей - *Candida tropicalis*, достаточно часто выделялся *Candida guilliermondii*, редко высевались *Candida krusei* и *Candida pseudotropicalis*.

Исследуя группу детей во время обострения острого лимфобластного лейкоза наблюдали значительные изменения микрофлоры зубного налёта как в качественном, так и в количественном отношении. Обнаружение представителей патогенной кишечной микрофлоры в большом количестве в полости рта является признаком развития патологических процессов макроорганизма. Так, *Enterococcus* высевался у 25 (71,4 %) детей, а *Escherichia coli* - у всех детей данной группы в среднем количестве $1,54 \pm 0,08 \text{ lg КОЕ/ см}^2$ (табл. 2).

Микрофлора зубного налёта детей во время рецидива ОЛЛ претерпевает критические изменения с развитием декомпенсированного дисбактериоза в результате резкого снижения общего и местного иммунитета у этих детей. В данной группе детей наблюдается увеличение общего числа бактерий, количества патогенных форм, устойчивость к антибиотикам.

В таблице 3 отражены цифровые значения микробного пейзажа зубодесневого желобка (десневой жидкости) у детей в разные периоды острого лимфобластного лейкоза. Спектр микроорганизмов в десневой жидкости представлен 11 родами и одним семейством энтеробактерий. В количественном отношении преобладают анаэробы. Количество вейлонел, порфиромонад, стрептококков и дрожжеподобных грибов достоверно превышало во всех обследованных группах детей по сравнению со здоровыми ($p < 0,05$). Количество актиномицетов составило $2,8 \pm 0,14 \text{ lg КОЕ / мл}$ у детей в первый острый период ОЛЛ, $2,7 \pm 0,14 \text{ lg КОЕ / мл}$ - в период ремиссии ОЛЛ и $3,7 \pm 0,19 \text{ lg КОЕ / мл}$ - в период рецидива. Число лактобацилл и сапрофитных нейсерий достоверно снизилось уже в период ремиссии ($0,72 \pm 0,04$ и $2,9 \pm 0,15 \text{ lg КОЕ / мл}$), а во время рецидива достигло минимальных значений ($0,61 \pm 0,31$ и $2,5 \pm 0,13 \text{ lg КОЕ / мл}$).

Таблица 3

Микробиоценоз зубодесневого желобка (десневой жидкости) практически здоровых детей и детей с ОЛЛ, lg КОЕ/мл ($M \pm m$)

Выделенные микроорганизмы	Острый период	Ремиссия	Рецидив	Здоровые дети
<i>Lactobacillus</i> spp.	2,1 \pm 0,11	0,72 \pm 0,04*	0,61 \pm 0,31*	2,4 \pm 0,12
<i>Neisseria</i> spp.	3,5 \pm 0,18	2,9 \pm 0,15*	2,5 \pm 0,13*	3,7 \pm 0,19
<i>Streptococcus</i> spp. + <i>Streptococcus</i> mutants	7,9 \pm 0,40*	5,3 \pm 0,27*	8,5 \pm 0,42*	4,2 \pm 0,22
<i>Prevotella intermedia</i>	2,9 \pm 0,15*	2,4 \pm 0,12	3,9 \pm 0,20*	2,2 \pm 0,12
<i>Bacteroides forsythus</i>	3,7 \pm 0,19*	3,0 \pm 0,15	4,2 \pm 0,21*	2,8 \pm 0,15
<i>Candida albicans</i>	2,9 \pm 0,15*	3,7 \pm 0,19*	3,9 \pm 0,20*	2,2 \pm 0,12
<i>Actinobacillus actinomy-</i> <i>cetemcomitans</i>	2,8 \pm 0,14*	2,7 \pm 0,14	3,7 \pm 0,19*	2,3 \pm 0,13
<i>Treponema denticola</i>	-	-	1,9 \pm 0,10*	-
Enterobacteriaceae	1,8 \pm 0,09*	1,5 \pm 0,08*	2,7 \pm 0,14*	1,1 \pm 0,06
<i>Stomatococcus</i> spp.	3,4 \pm 0,17	2,1 \pm 0,11*	1,9 \pm 0,10*	3,7 \pm 0,19
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	4,9 \pm 0,25*	4,7 \pm 0,24*	5,9 \pm 0,30*	2,3 \pm 0,13
<i>Veyllonelly</i>	2,5 \pm 0,13*	2,3 \pm 0,12*	2,9 \pm 0,15*	1,9 \pm 0,11

Примечание: * - показатель достоверности отличий по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,05$).

Изучение микробиоценоза всех исследуемых групп детей показало, что состав биотопа не меняется в различные периоды основного заболевания. Однако, при сравнении характера микробиоценоза десневой жидкости у детей с ОЛЛ, впервые обнаружена *Treponema denticola* в период рецидива онкозаболевания. Цифровые значения *Treponema denticola* составили 1,9 \pm 0,10 lg КОЕ / мл (табл. 3).

Результаты сравнения характера биоценоза зубодесневого желобка у детей в разные периоды острого лимфобластного лейкоза показывают уменьшение представителей резидентной флоры и значительное увеличение, как частоты регистрации, так и количества грибов рода *Candida*. Микроорганизмы выделялись в ассоциациях от 3 до 8 (в среднем - 5,65 \pm 0,31) родов.

Размер зоны просветления при экспресс диагностике образцов детей в период рецидива ОЛЛ - 11,7 \pm 0,59 мм, что соответствует дисбактериозу III степени. У детей с острым лимфобластным лейкозом изменение микробиоценоза полости рта сопровождается увеличением во всех изученных биотопах частоты регистрации штаммов микроорганизмов с признаками патогенности в разные периоды онкозаболевания.

Рецидив острого лимфобластного лейкоза приводит к росту частоты регистрации в ротовой жидкости, зубном налете и десневой жидкости грибов рода *Candida*. В десневой жидкости этой группы детей отмечено увеличение обсемененности кислотопродуцирующими микроорганизмами при снижении количества вейллонелл. Установленный факт более частого выявления и в большем количестве микроорганизмов, обладающих патогенным потенциалом, появление нетипичных для биотопов бактерий позволяет думать о микробиологическом

дисбалансе и о наличии в полости рта больных детей депо условно-патогенной микрофлоры, способствующей активизации процессов деминерализации эмали, росту воспалительных поражений тканей пародонта и СОПР.

Выводы. 1. Структурный анализ видовых представителей аэробной, анаэробной и грибковой флоры у детей с онкогематологическими заболеваниями показал, что во время лечения основного заболевания увеличивается количество и повышается степень заселения условно-патогенной и патогенной микрофлорой, которая вызывает обострения основных стоматологических заболеваний и приводит к их декомпенсированному течению в период рецидива основного заболевания.

2. На основании вышеприведенных данных, возникает необходимость направить профилактические и лечебные мероприятия на коррекцию микрофлоры ротовой полости в целом, а также обратить особое внимание на своевременное удаление зубного налета и личную гигиену каждого ребёнка в разные периоды течения болезни.

References:

1. Hazanova V. V., Rabinovich I. M., Zemskaya E. A. Study microbiocenosis in chronic diseases of the oral mucosa. *Stomatologiya*. 1996;2(75):26–27.
2. Rabinovich I. M., Banchenko G. V., Rabinovich O. F. The role of the microflora in the oral / mucosal pathology. *Stomatologiya*. 2002;5:48–50.
3. Shmatko V. I. Golubev I. N., Bidenko N. V. Protective mechanisms oral. *Visnyk stomatologii*. 1998;4:79-84.
4. Cannon R. Chaffin W. L. Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 1999:383.
5. Khazanova V. V. The microbial flora of the oral cavity. *Reference stomatologii*. Moskva: Medicina; 1993:438–443.
6. Durnov L. A. Guidelines for pediatric oncology. Moskva.: Miklos; 2003:504.
7. Khavkin A. I. Gut microbiota and the immune system. *Russkii metsinskiĭ zhurnal*. 2003;11:122–125.
8. Chukhrai N. L. Justification prevention of dental caries in children with hematological malignancies: Dissertation of candidate of medical sciences L'viv; 2005.
9. Yankovsky D. S., Dymant GS Microflora and human health Kiev; 2008:75–79.
10. Zelenova E. G., Zaslavsky M. I., Salina E. V., Rassanov S. P. Oral microflora: norm and pathology. Textbook, 2004:25.
11. Proud D. The role of defensins in virus-induced asthma. *Curr. Allergy AsthmaRep.* 2006;1(6):81–85.
12. Bondarenko V. M., Matsulevich T. V. Intestinal dysbiosis both clinical and laboratory syndrome: Current status of the problem: a guide for physicians. Moskva.: GEOTAR-Media, 2008:240–242.
13. Xiong, Y. Q., Bayer A. S., Yeaman M. R. Inhibition of intracellular macromolecular synthesis in *Staphylococcus aureus* by thrombin-induced platelet microbicidal proteins. *J. Infect. Dis.*-2002;3(185):348–356.

14. Slots, J. Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. J. Slots III. Periodontal. Res. 2002;5:389–398.
15. Umeda M. et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* detected by PCR in the oral cavities of periodontitis patients. J. Periodontol. 2003;74:129–134.
16. Schutte B. S., McCray P. B. Jr. β -Defensins in lung host defense. Annu. Rev. Physiol. 2002;64:709–748.
17. Scannapieco F. A., Genco R. J. Association of periodontal infections with atherosclerotic and pulmonary diseases. J. Periodontal. Res. 1999;34:340–345.
18. Hacock R. E. W., Scott M. G. The role of antimicrobial peptides in animal defenses. PNAS. 2000;97:8856–8861.